

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ШТАММОВ В ЭРАДИКАЦИИ ИНФЕКЦИИ *HELICOBACTER PYLORI*: ЭФФЕКТИВНОСТЬ IN VITRO И IN VIVO МОДЕЛЯХ

Рустамов М.Н.<sup>1</sup>, Барышникова Н.В.<sup>2</sup>, Сварваль А.В.<sup>3</sup>, Рустамова Л.М.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>УО «Белорусский государственный медицинский университет», кафедра кардиологии и внутренних болезней, г. Минск, Республика Беларусь,

<sup>2</sup>Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени И.П. Павлова, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация,

<sup>3</sup>Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация,

<sup>4</sup>РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, г. Минск, Республика Беларусь

### Рустамов Мирзабек Надирович

Кандидат медицинских наук, доцент кафедры кардиологии и внутренних болезней УО «Белорусский государственный медицинский университет».

Научные интересы: Клиническая гастроэнтерология (кислотозависимые и *Helicobacter pylori* - ассоциированные заболевания); микробиота кишечника, медицинская реабилитация, курортология и физиотерапия; функциональная гастроэнтерология, ультрасонография органов пищеварения.

Тема диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук и год защиты: «Влияние сульфатной кальциево-магниевой-натриевой и хлоридной натриевой питьевых минеральных вод на функциональное состояние, трофику и механизмы регуляции гастродуоденальной области у больных хроническим гастродуоденитом и дуоденальной язвой», 1986 г.

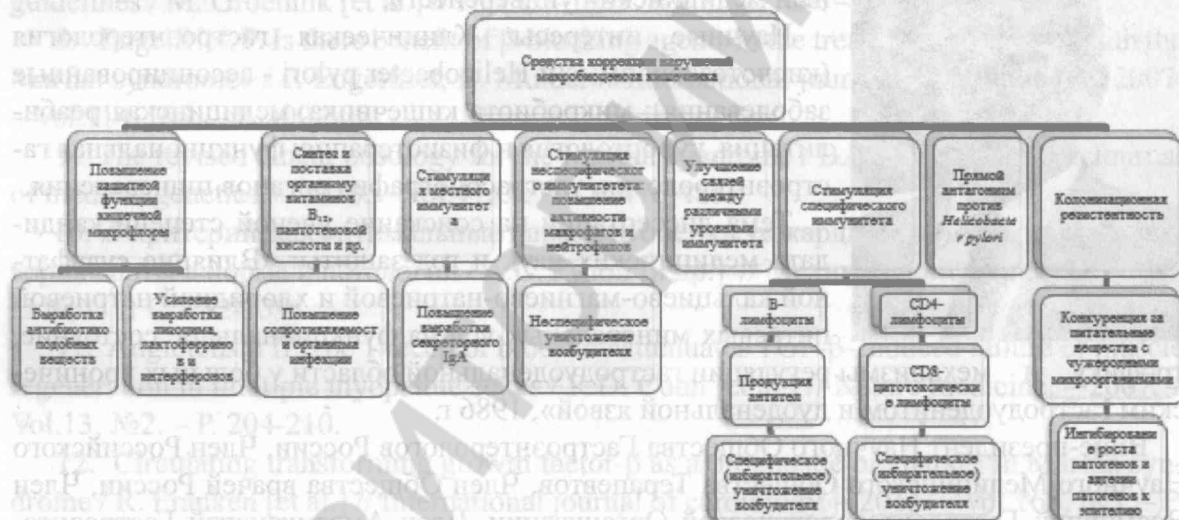
Вице-президент Научного Общества Гастроэнтерологов России, Член Российского Научного Медицинского Общества Терапевтов, Член Общества врачей России, Член Всемирной Гастроэнтерологической Организации, Член Американской Гастроэнтерологической Ассоциации, Член Европейской Ассоциации Гастроэнтерологии, Эндоскопии и Нутрициологии, Почетный член Общества Гастроэнтерологов Таджикистана, Член редакционных коллегий журналов «Экспериментальная и Клиническая Гастроэнтерология» (Москва), «Проблемы Гастроэнтерологии» (Душанбе), Член редакционных советов журналов «Доктор.Ру» Гастроэнтерология (Москва), «Гастроэнтерология Санкт-Петербурга», «Мир медицины» (Минск).

Возможным путем повышения эффективности эрадикации *Helicobacter pylori* и оптимизации лечения *H. pylori*-ассоциированных заболеваний является назначение пробиотиков. Препараты с пробиотическим действием, кроме коррекции дисбиотических изменений кишечной микрофлоры, обеспечивают ряд дополнительных положительных эффектов, например иммунологических (улучшение показателей гуморального и клеточного иммунитета, снижение алергизации организма), а также оказывают воздействие на *H. pylori* в желудке за счет прямого антагонистического влияния и стимуляции местной иммунологической защиты (укрепление слизистого защитного барьера и снижение выраженности воспаления слизистой оболочки желудка, выработка бактериоцинов) [1, 2, 3].



В ряде работ показано, что назначение больным с заболеваниями, ассоциированными с *H. pylori*, пробиотиков (на основе бифидобактерий, лактобацилл, культуры сенной палочки и др.) способствует улучшению состояния микрофлоры кишечника, снижению риска развития побочных эффектов антибактериальной терапии, в том числе антибиотикоассоциированной диареи, способствует наступлению более быстрой клинико-эндоскопической ремиссии заболевания и повышению эффективности эрадикации *H. pylori* [4, 5, 6, 7, 8]. В постулатах Четвертого Маастрихтского консенсуса упоминается, что некоторые пробиотики и пребиотики показали многообещающие результаты в качестве адьювантной терапии для купирования побочных эффектов антибиотиков [9].

Исследования, посвященные роли пробиотиков в эрадикации *H. pylori*, движутся по двум направлениям. В первом случае пробиотики включают в состав стандартной эрадикационной терапии. [10, 11, 12]. Второе направление изучает влияние монотерапии пробиотиками на эффективность антихеликобактерной терапии [13, 14, 15, 16, 17]. Важным аспектом является также подтверждение антагонистических свойств пробиотиков *in vitro* для более четкого понимания процессов взаимодействия пробиотических штаммов с *H. pylori*. Предлагается схема основных механизмов положительного влияния пробиотиков (средств коррекции нарушений микробиоценоза кишечника) на эффективность эрадикации *Helicobacter pylori* (рис. 1) [18, 19].



**Рисунок 1** – Механизмы влияния средств для коррекции нарушений микробиоценоза кишечника на эффективность эрадикации *H. pylori*

**Цель работы:** изучить влияние некоторых пробиотиков на рост инфекции *Helicobacter pylori in vitro* оценка эффективности эрадикации при использовании монотерапии пробиотиками *in vivo*.

**Материалы и методы**

**Исследование *in vitro***

Были успешно культивированы 14 штаммов *Helicobacter pylori*. Штаммы микроорганизма были получены при проведении бактериологического анализа биоптатов слизистой оболочки антрального отдела желудка пациентов с клиническим проявлением диспепсии. Инкубирование проводилось в стандартных условиях для роста *H. pylori*. Оценивалось действие трех различных пробиотиков: 1-ый - на основе *Enterococcus faecium strain L-3*, 2-ой - на основе лиофилизированной культуральной жидкости *Bacillus subtilis*, 3-ий – на основе комбинации *Bifidobacterium longum* и *Enterococcus faecium*. Исследуемые пробиотики разводились в дистиллированной воде в соотношении 1:100 и затем добавлялись в чашку с агаром, на который высевался штамм *H. pylori*. Учет роста осуществлялся на 6-7 сутки.

### Исследование *in vivo*

Под наблюдением находилось 55 больных хроническим гастродуоденитом, ассоциированным с *H. pylori*. В зависимости от получаемой терапии пациенты были разделены на 3 группы. 1-ая группа (18 больных) получала пробиотик на основе *Bacillus subtilis* 2 капсулы 2 раза в день во время еды 20 дней (согласно схеме назначения в инструкции); 2-ая группа (17 пациентов) – пробиотик на основе *Enterococcus faecium* 3 драже 3 раза в день во время еды в течение 1 месяца (согласно схеме назначения в инструкции), 3-я группа (20 больных – группа сравнения) – стандартную тройную эрадикационную терапию (омепразол 20 мг 2 раза в день, амоксициллин 1000 мг 2 раза в день, кларитромицин 500 мг 2 раза в день 7 дней). В 1-ую и 2-ую группы вошли пациенты, у которых имела место аллергическая реакция на кларитромицин или амоксициллин и/или которые отказались от проведения тройной эрадикационной терапии. Всем больным до и после лечения (через 1,5-2 месяца) проводился стандартизированный опрос для оценки характера жалоб, фиброэзофагогастродуоденоскопия с взятием двух биоптатов из антрального отдела желудка для верификации инфекции *H. pylori* (проводились быстрый уреазный тест, гистологическое исследование биоптатов, полимеразная цепная реакция с детекцией гена *ureC*). Статистическая обработка данных осуществлялась с помощью программы Excel для Windows.

### Результаты и обсуждение

#### Исследование *in vitro*

Ингибирование роста *H. pylori* имело место в 50% случаев при контакте культуры микроорганизма с пробиотиком на основе *Bacillus subtilis*, в 78.6% случаев при контакте с пробиотиком на основе *Enterococcus faecium strain L-3* и в 64% случаев при контакте с пробиотиком на основе *Bifidobacterium longum* и *Enterococcus faecium* (таблица 1).

**Таблица 1** – Исследование влияния пробиотических препаратов на рост штаммов *H. pylori in vitro*

№т штамма	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Enterococcus faecium strain L-3</i>	<i>Bifidobacterium longum</i> и <i>Enterococcus faecium</i>	Контроль роста
1	Р	Р	Р	Р
2	Н	Р	Р	Р
3	Н	Н	Н	Р
4	Н	Н	Н	Р
5	Н	Н	Н	Р
6	Н	Н	Н	Р
7	Р	Н	Н	Р
8	Р	Н	Н	Р
9	Н	Н	Р	Р
10	Р	Р	Р	Р
11	Н	Н	Н	Р
12	Р	Н	Н	Р
13	Р	Н	Н	Р
14	Р	Н	Р	Р
% ингибирования роста <i>H. pylori</i>	50,0	78,6	64,3	-

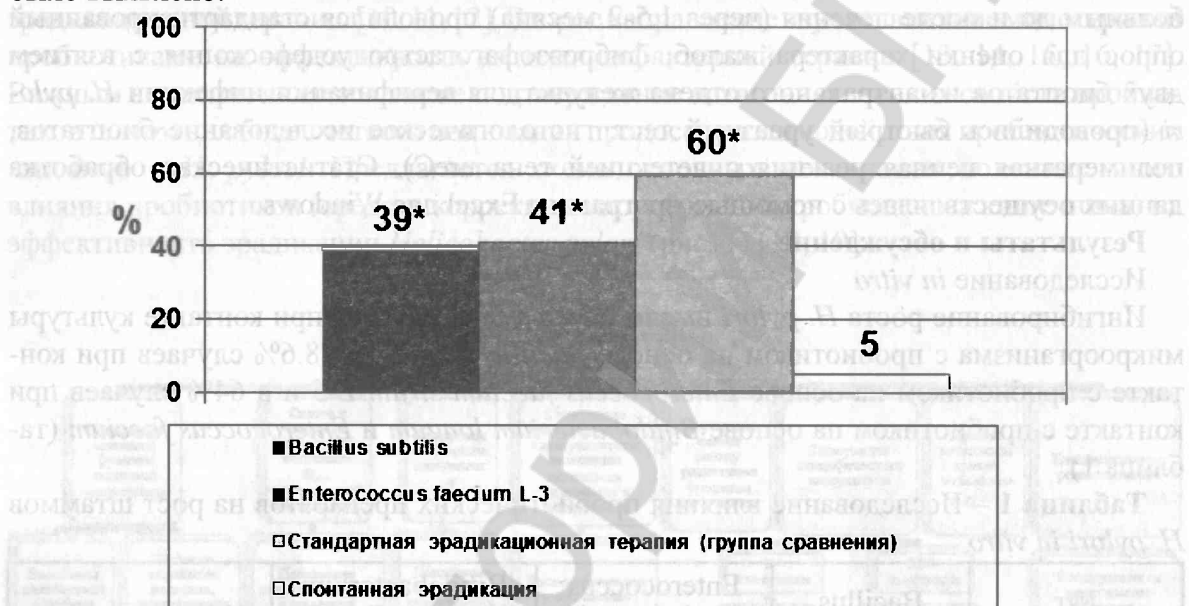
Примечание: Н – нет роста штамма *H. pylori*, Р – рост штамма *H. pylori*



Из представленной таблицы видно, что ингибирование роста *H. pylori* при контакте со всеми тремя выбранными пробиотиками произошло лишь у 35,7% штаммов данного микроорганизма. Ингибирование роста 35,7% штаммов микроорганизма было отмечено в присутствии каких-либо двух из трех пробиотиков. В 14,3% случаев ингибирование роста *H. pylori* определялось в присутствии только какого-то одного пробиотика. Это может говорить о различной реакции штаммов возбудителя на разные пробиотики и требует дальнейшего изучения.

#### Исследование *in vivo*

Пробиотики в качестве монотерапии *H. pylori*-ассоциированного гастрита показали свою эффективность (рис. 2) и безопасность. Пациенты отмечали хорошую переносимость пробиотических препаратов, нежелательных явлений на фоне их приема не было выявлено.



**Рисунок 2** – Сравнительная оценка эффективности эрадикации *Helicobacter pylori* у больных *Helicobacter pylori*-ассоциированным хроническим гастродуоденитом при использовании монотерапии пробиотиками

\* -  $p < 0,05$  - различия между группой исследования и уровнем спонтанной эрадикации статистически достоверны

По оси абсцисс – варианты лечения

По оси ординат – эффективность эрадикации *H. pylori*, %

#### Заключение

Результаты, полученные *in vitro*, могут быть следствием прямого ингибирующего (антагонистического) действия пробиотиков (возможно за счет синтеза бактериоцинов) в отношении *H. pylori*. Однако данная гипотеза нуждается в дальнейшем углубленном изучении. Использование монотерапии пробиотиками обеспечивает достижение уровня успешной эрадикации *H. pylori* (39 и 41%), достоверно превышающего процент спонтанной эрадикации (3-5%). Лучшие показатели ингибирования *H. pylori* продемонстрировал пробиотический штамм *Enterococcus faecium strain L-3 in vitro* и *in vivo*. Следовательно, возможно проведение дальнейших исследований именно с этим пробиотиком. В целом, назначение монотерапии пробиотиками может быть рекомендовано как альтернативный способ лечения хронического гастродуоденита, ассоциированного с *H. pylori*, в особенности при непереносимости компонентов стандартной антихеликобактерной терапии.

Литература:

1. Эрадикационная терапия, включающая пробиотики: консенсус эффективности и безопасности / Е.И. Ткаченко [и др.] // Клиническое питание. – 2005. – № 1. – С. 14-20.
2. Суворов, А.Н. Н. *Pylogi* как возбудитель заболеваний желудочно-кишечного тракта. Генетика патогенности. Возможность эрадикации с использованием пробиотиков (лекции для врачей) / А.Н. Суворов, В.И. Симаненков. – СПб, 2006. – 12 с.
3. Gotteland, M. Systematic review: are probiotics useful in controlling gastric colonization by *Helicobacter pylori*? / M. Gotteland, O. Brunser, S. Cruchet // *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*. – 2006. – Vol. 23, №8. – P. 1077-1086.
4. Суворов, А.Н. Драже «Ламинолакт» - эффективное средство для нормализации микробиоценоза кишечника / А.Н.Суворов, Г.Г.Алехина // *Гастробюллетень*. – 2001. – № 1. – С. 24.
5. Барышникова Н.В. Эффективность пробиотической терапии в коррекции нарушений микробиоценоза кишечника у больных хроническим гастродуоденитом, ассоциированным с *Helicobacter pylori* / Н.В. Барышникова // *Вестник СПб.ГМА*. – 2006. – №2. – С. 89-92.
6. Caramia G. Probiotics from Mechnicoff to the current preventive and therapeutics possibilities. /G. Caramia// *La Pediatria medica e chirurgica: Medical and Surgical Pediatrics*. – 2004. - Vol. 26 (1). – P. 19-33
7. Limdi J.K. Do probiotics have a therapeutic role in gastroenterology? /J.K. Limdi, C. O'neill, J. McLaughlin// *World Journal of Gastroenterology*. – 2006. - Vol. 12 (34). – P. 5447-5457.
8. Szajewska H. Meta-analysis: the effects of *Saccharomyces boulardii* supplementation on *Helicobacter pylori* eradication rates and side effects during treatment. /H. Szajewska, A. Horvath, A. Piwowarczyk // *Aliment Pharmacol Ther* – 2010. – Vol. 32. – P. 1069-1079
9. Malfertheiner P. Management of *Helicobacter pylori* infection: the Maastricht IV/ Florence Consensus Report /P. Malfertheiner, F. Megraud, C. O'Morain [et al.]// *Gut*. – 2012. – Vol. 61. – P. 646-664.
10. Rustamov M.N. Use of nonpharmacologic methods in the treatment of *Helicobacter pylori* infection in patients with duodenal ulcer /M.N.Rustamov, L.B.Lazebnik// *Научно-практические аспекты кардиологии и внутренних болезней*. Минск – 2013. – с.294-297.
11. Rustamov M.N. Use of probiotics in the treatment of patients with *Helicobacter pylori*-positive duodenal ulcer. /M.N.Rustamov, L.B.Lazebnik// *Научно-практические аспекты кардиологии и внутренних болезней*. – Минск– 2013. – с.298-301.
12. Rustamov M.N. Effect of nonpharmacologic factors in treatment of patients with *Helicobacter pylori* - associated duodenal ulcer. /M.N.Rustamov, L.B.Lazebnik//*Central Asia Gastroenterology Week-2013. Consilium*, 2013. – p.84.
13. Козлова Д.И. Состояние кишечного микробиоценоза и течение *H. pylori*-ассоциированного гастрита в условиях эрадикационной и синбиотической терапии. /Д.И.Козлова// *Автореф. дисс. канд. мед. наук*. – СПб, 2004. – 21 с.
14. Барышникова Н.В. Монотерапия пробиотиками как альтернатива стандартной эрадикационной терапии больных *Helicobacter pylori*-ассоциированными заболеваниями. /Н.В.Барышникова// *Сборник научных материалов VI конгресса «Рациональная фармакотерапия и клиническая фармакология»* – СПб, 2010 – С. 27-32.
15. Canducci F. Probiotics and *Helicobacter pylori* eradication. /F. Canducci, F. Cremonini, A. Armuzzi [et al.]// *Digestive and Liver Diseases: official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver*. – 2002. - Vol. 34, suppl. 2. - P. S81-S83.
16. Plewinska E.M. Bifidogenic properties of the probiotic bacteria in eradication *Helicobacter pylori* infection in children. /E.M. Plewinska, L. Bak-Romaniszynh, E. Czkwianianc, I. Planeta-Malecka// *Abstracts of World congress of gastroenterology*. - Montréal, Canada, 2005.
17. Vandenplas Y. Diarrhea: Treatment and prevention. Where do probiotics fit? /Y. Vandenplas, D. Czerucha, C. Surawicz// *Abstracts of World congress of gastroenterology*. – Montréal, Canada, 2005/
18. Успенский Ю.П. Лечение инфекции *Helicobacter pylori*: проблемы и перспективы. /Ю.П. Успенский, Н.В.Барышникова, Ю.А. Фоминых// *Consilium Medicum. Гастроэнтерология*. (Прил.). 2015; 1: 8–17.
19. Успенский Ю.П. Инфекция *Helicobacter pylori* в клинической практике. /Ю.П. Успенский, А.Н.Суворов, Н.В.Барышникова// *СПб, ИнформМед*, 2011. – С. 497-537.